Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره هفتم، شماره دوم، ۱۳۹۰، پیاپی ۲۳: ۲۴-۱۷

جداسازی آنزیم لاکتوپراکسیداز از شیر شتر و بررسی اثرات آنتی باکتریال آن بر علیه باکتری *استافیلوکوکوس* اورئوس

مهرین بلوری مقدم[1*]، سمیه بهمن پور[1]، سعید زیبایی[2]، مریم ایزدی[3]، سمانه لعل علیزاده[1]

۱- دانشگاه پیام نور واحد مشهد، مشهد، ایران

۲- مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی شعبه شمال شرق، مشهد، ایران

۳- دانشگاه آزاداسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

تاریخ دریافت: ۲۷ بهمن ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: ۲۷ اردیبهشت ۱۳۹۱

چکیده

آنزیم لاکتوپراکسیداز در غدد پستانداران مختلف و ترشحات آن‌ها وجود دارد. سیستم لاکتوپراکسیداز یک سیستم ضدمیکروبی طبیعی در شیر می‌باشد که شامل آنزیم لاکتوپراکسیداز- پراکسید هیدروژن و تیوسیانات می‌باشد که این سیستم اکسایش تیوسیانات توسط پراکسید هیدروژن به عامل آنتی باکتریال هیپوتیوسیانات که باعث مهار رشد باکتری‌ها می‌شود، را کاتالیز می نماید. در این بررسی آنزیم لاکتوپراکسیداز از شیر شتر استخراج شد و چربی لاکتوپراکسیداز شیر شتر با استفاده از سانتریفیوژ یخچالدار (۴°C در دور ۲۵۰۰ rpm) برطرف شد. استخراج آنزیم لاکتوپراکسیداز از شیر شتر با استفاده روش‌های کروماتوگرافی تعویض یونی با سفادکس CM C-50 و کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون سفادکس G100 انجام گردید و فعالیت آنزیم لاکتوپراکسیداز توسط تترامتیل بنزیدین اندازه‌گیری شد و برای تعیین وزن مولکولی از روش SDS PAGE استفاده گردید. ضریب ثابت میکائیلیس برای این آنزیم برابر با ۰/۲۶۸ mM و Vmax برابر با ۱۴/۹×۱۰$^{-5}$ μmol/ ml min بدست آمده است. سیستم کامل شامل آنزیم لاکتوپراکسیداز- پراکسیدهیدروژن و تیوسیانات می‌باشد که اثر ضدباکتریایی این سیستم بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. برای این منظور انکوباسیون باکتری‌ها تحت شرایط سیستم کامل به مدت ۳۶۰دقیقه انجام گردید. نتایج نشان داد که اثر ضدباکتریایی سیستم کامل بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برابر با ۷۰٪ می‌باشد و این نتیجه در مقایسه با شاهد دارای اختلافی معنی‌دار می‌باشد.

کلمات کلیدی: *شیر شتر، آنزیم لاکتو پراکسیداز، استافیلو کوکوس اورئوس.*

*نویسنده مسئول: مهرین بلوری مقدم

آدرس: دانشگاه پیام نور واحد مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۹۳۵۵۳۸۳۵۲۱

پست الکترونیک: *mehrinbolori@yahoo.com*

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آنزیم پراکسیدازی که در شیر ترشح می‌شود به نام لاکتوپراکسیداز معروف می‌باشد. لاکتوپراکسیداز نقش مهمی در حفاظت از غدد پستانی بر علیه میکروب‌های آلوده کننده این سیستم دارد (۱ و ۲).

لاکتوپراکسیداز یک آنزیم اکسیدوردوکتاز با ساختار گلیکوپروتئین و یک پروتئین دفاعی است که در گروه ایمینوگلوبولین‌ها قرار نمی‌گیرد، فعال‌شدن این آنزیم و ترشح آن در غدد برون‌ریزی مانند اشک، بزاق، بینی و برونش‌ها و ترشحات روده‌ای رخ می‌دهد شامل یک زنجیره پپتیدی با وزن مولکولی ۷۸۴۳۱ دالتون می‌باشد. محتوای کربوهیدرات آنزیم در حدود ۱۰ درصد می‌باشد. آنزیم محتوی یک ساختار هِم که به ازاء هر مول آن یک مولکول آهن وجود دارد و دارای ۵-۴ زنجیره کربوهیدرات می‌باشد (۱ و ۲).

لاکتوپراکسیداز به خودی خود خاصیت میکروب‌کشی ندارد. به هر حال این آنزیم همراه با هیدروژن پراکسیداز و تیوسیونات اثرات ضدباکتریائی خود را میانجی‌گری می‌کند و به عنوان سیستم آنتی‌باکتریال طبیعی شناخته شده که سیستم لاکتوپراکسیداز نامیده می‌شود (۳).

این آنزیم باعث اکسایش تیو سیانات در حضور H_2O_2 و باعث ایجاد دو ترکیب به نام هایپوتیوسیانات ($OSCN^-$) و تیوسیانیک اسید (HOSCN) می‌شوند و اینها دارای خواص آنتی‌باکتریال می‌باشند و در رشد و متابولیسم تعداد زیادی از انواع مختلف میکروارگانیزها دخالت می‌کنند(۴ و ۷).

$$H_2O_2 + SCN^{(-)} \xrightarrow{\text{Lactoperoxidase}} OSCN^{(-)}$$

مواد و روش کار

استخراج آنزیم لاکتوپراکسیداز

جهت بررسی این تحقیق شیر از نواحی جنوبی استان خراسان رضوی(منطقه بردسکن) جمع‌آوری و برای حفظ ساختار پروتئینی آنزیم‌ها و در نهایت فعالیت آنزیمی آن‌ها بلافاصله به یخچال (۲۰- درجه سانتی‌گراد) منتقل گردید.

به علت داشتن چربی‌های فراوان در شیر، در ابتدا عمل چربی‌گیری انجام می‌گردد. بدین منظور از سانتریفیوژ یخچال‌دار (۴ درجه سانتی‌گراد) در دور ۲۵۰۰rpm به مدت ۱۵دقیقه استفاده شد.

شیر بدست آمده از مرحله اول که عمل چربی‌زدایی آن انجام شده بر روی ستون کروماتوگرافی تعویض یونی به ابعاد (۱۰×۳cm) با استفاده از رزین CM sep Hadex c-50 لود می‌گردد. عمل تعادل‌سازی رزین‌ها با بافر فسفات سدیم ۱۰mM(pH=۶/۸) انجام می‌شود وآنزیم‌های باند شده به ستون با ۱۰۰ml بافر فسفات سدیم ۱۰mM(pH=۶/۸) محتوی NaCl ۱۰۰mM شستشو داده می‌شود (۱).آنزیم جدا شده در گرادیان خطی NaCl 100-200 mM در بافر فسفات سدیم 10 mM (pH= ۶/۸) تحت تاثیر آمونیوم سولفات (اشباع ۹۰٪) قرار داده می‌شود. بعد از این مرحله محلول آنزیم در مقابل بافر فسفات سدیم ۵mM با pH= ۶/۸ دیالیز می‌گردد.

محلول بدست آمده از عمل دیالیز برروی ستون کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون با استفاده از رزین سفادکس G-100 (ابعاد ۱۰۰cm× ۲/۵) قرار داده می‌شود. آنزیم باند شده به ستون توسط بافر فسفات سدیم ۰/۱ M با pH= ۶/۸ جدا می‌گردد و تحت تاثیر آمونیوم سولفات (اشباع ۹۰٪) قرار داده می‌شود. بعد از این مرحله محلول آنزیم در مقابل بافر فسفات سدیم

www.SID.ir

Archive of SID

۰/۵mM با ۶ =pH دیالیز می‌گردد. همزمان فراکسیون‌ها توسط دستگاه جمع‌آوری‌کننده فراکسیون‌ها، جمع‌آوری و جهت بررسی‌های بعدی به فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد منتقل می‌شوند. به منظور تعیین میزان خلوص آنزیم و همچنین کنترل روند صحیح خالص‌سازی از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید- سدیم دودوسیل سولفات (SDS-PAGE) استفاده می‌گردد. غلظت پروتئین بوسیله روش براد فوردتعیین و آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد بکاربرده می‌شود.

آنزیم لاکتو پر اکسیداز یک آنزیم دو سوبسترایی است. این آنزیم می تواند پر اکسید هیدروژن را توسط یک سوبسترای دهنده الکترون نظیر TMB احیا کند.

به منظور محاسبه ثابت های سنتیکی آنزیم (Km،Vmax) فعالیت آنزیم در برابر غلظت‌های مختلف TMB سنجش شد. جهت سنجش فعالیت آنزیم لاکتوپراکسیداز در برابر غلظت‌های مختلف TMB مقدار ۱ ml از غلظت‌های ۱ mM - ۰/۰۱ در بافر فسفات سدیم ۲۵mM با pH=۴ به مقدار ۵۰ul آنزیم اضافه شد. با اضافه کردن مقدار ۲ml از H2O2 (۰/۲ mM) شرایط انجام واکنش فراهم شد. پس از مدت سه دقیقه انکوباسیون در شرایط ۳۷ درجه سانتیگراد با اضافه کردن مقدار ۵۰۰ul اسید سولفوریک ۲N واکنش متوقف شد و جذب آن در طول موج ۴۲۰nm اندازه گیری شد(۹). همچنین فعالیت آنزیم در غلظت‌های مختلف H_2O_2 بررسی شد ونمودار میکائیلیس– منتن برای این آنزیم رسم گردید.

بررسی فعالیت ضد باکتری آنزیم لاکتوپراکسیداز

به منظور بررسی فعالیت ضدباکتری آنزیم لاکتوپراکسیداز استخراج شده از شیر شتر ابتدا باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* به مدت ۲۴ساعت در محیط کشت مایع BHB (Brain Heart Broth) در درجه حرارت ۳۷ °C کشت داده شد و با استفاده از محلول سرم فیزیولوژی استریل یا PBS عمل رقت‌سازی انجام شد. جهت کشت تیمارهای شاهد و آزمایش از رقت 10^{-6} استفاده شد. برای آزمایش لوله‌ها به ۴ گروه مورد بررسی و یک گروه شاهد تقسیم شدند که در هرگروه چهار تکرار وجود داشت.

بنابراین برای بررسی اثر آنتی باکتریال آنزیم لاکتوپراکسیداز، اثر باکتری‌کشی هر یک از واکنش‌گرها بطور جداگانه و نیز اثر سیستم کامل شامل {H2O2 (۰/۰۳ mM) + تیوسیانات (۱mM) و آنزیم ۰/۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر} با شرایط برابر بررسی گردید. در دقایق ۰، ۶۰ و ۳۶۰ از گروه‌ها نمونه گرفته و جهت شمارش تعداد کلنی برروی پلیت‌های حاوی آگار خون‌دار کشت داده شد.

نتایج

سنجش فعالیت آنزیم که بااستفاده از سوبسترای TMB بر روی تمام فراکسیون‌ها انجام شد، نشان داد ماکزیمم جذب در فراکسیون۳۳ (با جذبی برابر۰/۰۵۶) بوده است و پس از آن جذب کاهش‌پیدا کرده است. سنجش میزان آنزیم به روش استفاده از TMB نشان داد که بیشترین خروج پروتئین در فراکسیون‌های ۳۲، ۳۳ و ۳۴ بوده است (نمودار۲).

برای تعیین غلظت پروتئین به‌روش برادفورد عمل شد. بر اساس این روش مقدار غلظت آنزیم در مخلوط

www.SID.ir

Archive of SID

فراکسیون‌های ۳۲، ۳۳ و ۳۴ مورد نظر ۰/۰۲۲۱mg/ml محاسبه شد.

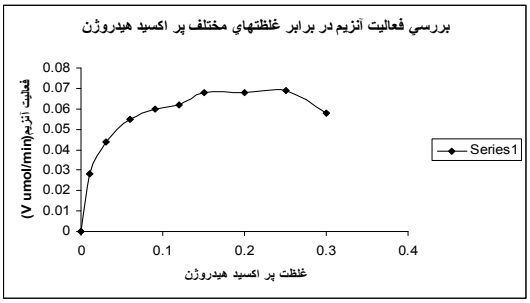
با کنترل فراکسیون‌ها روی ژل SDS–PAGE و مشاهده باند آنزیم در فراکسیون۳۳ ، این فراکسیون به عنوان فراکسیون حاوی آنزیم در نظر گرفته شد. با مقایسه باند این فراکسیون با باندهای مارکر (پروتئین‌های با وزن مولکولی معین) وزن مولکولی پروتئین در محدوده K D ۷۵ می‌باشد.

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم لاکتوپراکسیداز در برابر غلظت‌های مختلف H2O2 نشان داد که در محدوده غلظت‌های۰/۰۱ تا۰/۱۵ میلی مولارH2O2، با افزایش میزان H2O2 فعالیت آنزیم لاکتوپراکسیداز نیز افزایش متناسبی نشان می‌دهد. اما از غلظت‌های ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ میلی مولار H2O2 با افزایش غلظت، فعالیت آنزیم افزایش بسیار ناچیزی نشان می‌دهد. این امر بیان می‌دارد با فعالیت اولیه آنزیم تمام سوبسترا مصرف گردید. برهمین اساس نمودار میکائیلیس- منتن آنزیم رسم گردید (نمودار۱). جهت تعیین سنتیک آنزیم لاکتوپراکسیداز در حضور غلظت‌های مختلف سوبسترا TMB فعالیت آنزیم لاکتو پراکسیداز مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد، با سوبسترای TMB مقدار Km برابر با ۰/۲۶۸ mM و Vmax برابر ۱۴/۹×۱۰$^{-۵}$ µmol/ml min می‌باشد.

نتایج حاصل از اثر ضد باکتری آنزیم لاکتوپراکسیداز بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

همچنین بکارگیری سیستم کامل (lactoperoxidase+tiocyanate+H2O2) پس از یک ساعت تعداد باکتری‌ها از ۲۱کلنی به ۱۰/۵ و پس از گذشت ۶ ساعت تعداد آنها به ۶/۵ کلنی کاهش یافت. بنابراین سیستم کامل باعث کاهش درصد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر (CFU/ML) باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* شده و میزان CFU به۳۰ درصد رسیده است (نمودار۳).

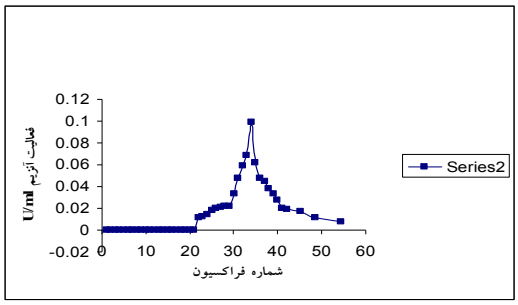
نتایج نشان می‌دهد، براساس آزمون آنالیز واریانس دوطرفه اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) بین اثر سیستم کامل با اثر سایر مواد شرکت‌کننده در واکنش برای کاهش تعداد باکتری‌ها دیده شد، بطوری که درصد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر ٪CFU/ ml به۳۰ درصد رسیده است ولی متغیر زمان معنی‌دار نیست (۰/۰۵۶ =p) (نمودار۴).



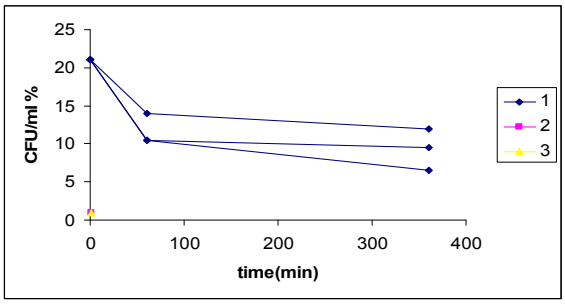
نمودار۱: نمودار میکائیلس- منتن آنزیم لاکتوپراکسیداز در حضور غلظت‌های مختلف H2O2

www.SID.ir

Archive of SID

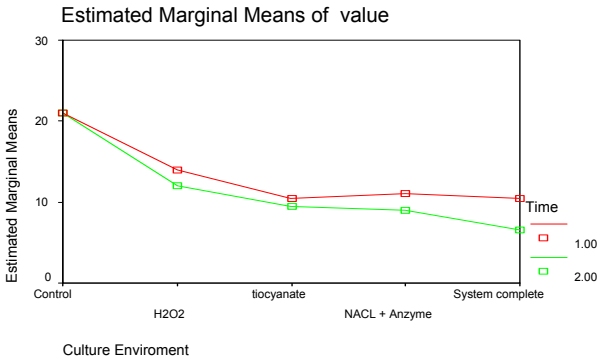


نمودار۲:بررسی فعالیت آنزیم لاکتو پراکسیداز به وسیله سوبسترای TMB در فراکسیون‌های واجد پروتئین در طول موج ۲۸۰nm اندازه‌گیری شده است.



۱= H2O2 ۲= NaSCN ۳= Complete system

نمودار۳:اثر پراکسیدهیدروژن و تیوسیانات و سیستم کامل بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تحت شرایط انکوباسیون به مدت ۳۶۰ دقیقه در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد



نمودار٤: نتایج آماری اثرتیمارهای مختلف بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در زمان‌های ٦٠ و ٣٦٠ دقیقه. همانگونه که ملاحظه می‌شود تفاوت در مقدار پاسخ در تیمارهای متفاوت برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* معنی‌دار است.

بحث ونتیجه‌گیری

آنزیم لاکتوپراکسیداز به عنوان یک فاکتور آنتی‌باکتریال بسیار مهم در شیر محسوب می‌شود و از آن می‌توان برای کاهش رشد باکتریایی شیر استفاده نمود.

در این تحقیق میزان آنزیم لاکتوپراکسیداز استخراج شده از ۲ml شیر شتر با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی تعویض یونی با CM sepHadex C-50 و کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون Sphadex G100 / ۰/۰۲۲۱ mg/ml بوده است و Km و Vmax محاسبه شده به ترتیب عبارتند از ۰/۲۶۸mM و ۱۴/۹×۱۰$^{-5}$ µmol/ ml min بدست آمده است و وزن مولکولی این آنزیم در حدود ۷۵۰۰۰ دالتون تخمین زده شد.

Uguz و Ozdemir در سال (۲۰۰۴) تحقیقی در زمینه استخراج آنزیم لاکتوپراکسیداز شیر گاو انجام با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی تعویض یونی با CM sepHadex C-50 با کروماتوگرافی ژل

www.SID.ir

Archive of SID

فیلتراسیون G100 spephadex انجام داده‌اند و میزان Vmax برابر با ۷/۸۷ umol/ml min و Km برابر با ۰/۴۱۱mM و وزن مولکولی آنزیم لاکتوپراکسیداز استخراج شده از شیر گاو در حدود ۸۰۰۰۰ دالتون بررسی شده است (۸).

Ozgur Yoruk در سال (۲۰۰۶) تحقیقی در زمینه اثرات آنتی‌بیوتیک‌ها بر آنزیم لاکتوپراکسیداز گاو انجام داده است و در این تحقیق از روش‌های کروماتوگرافی تعویض یونی با CM sepHadex C-50 و کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون spephadex G100 استفاده شده و میزان Vmax برابر با ۱۳/۶ umol/ml min و Km برابر با ۰/۴۱۱mM و وزن مولکولی آنزیم در حدود ۸۰۰۰۰ دالتون بررسی شده است (۱۰).

درخصوص اثر سیستم لاکتوپراکسیداز گفته می‌شود که دارای اثر باکتری‌کشی برعلیه باکتری‌های گرم منفی و مثبت می‌باشد. در مقایسه با سایر نتایج، یافته‌های این بررسی نشان داد که اثر سیستم لاکتوپراکسیداز با درنظرگرفتن نوع آنزیم و مدت زمان انکوباسیون (۶ساعت) و میزان تشکیل کلنی بر میلی لیتر (CFU/ml) باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس به* ۳۰ درصد رسیده است.

نوروزی مقدم وهمکاران در سال ۱۳۸۱در تحقیق استخراج آنزیم پراکسیداز از غده مرکب ماهی مرکب اثرضد باکتریایی سیستم پراکسیداز را بر دوسوش باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Aeromonas hydrophila* در مدت زمان انکوباسیون (۱۵دقیقه) بررسی کرد. نتایج نشان داد میزان تشکیل کلنی بر میلی لیتر (CFU/ml) باکتری گرم منفی تحت اثر این سیستم ۲۷ و میزان تشکیل کلنی بر میلی لیتر (CFU/ml) باکتری گرم مثبت، ۱۱ بوده است (۷).

Jacob و همکارانش در سال (۱۹۷۲) باکتری *مایکوپلاسما پنومونیا* را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در معرض سیستم پراکسیداز انسانی-هیدروژن پراکسید-کلرید قرار دادند و مشاهده کردند که فعالیت ضدباکتریایی این سیستم در مقایسه با شاهد صد در صد بوده است (۱۱).

در این تحقیق اثر ضد باکتریایی آنزیم لاکتوپراکسیداز استخراج شده از شیر شتر نواحی بردسکن (خراسان رضوی) برروی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ثابت گردید که موید تحقیقات انجام شده برروی لاکتوپراکسیداز استخراج شده از منابع دیگر می‌باشد. همانطور که می دانیم در فرهنگ شترداران نیز شیر شتر نسبت به فساد، از شیر سایر دام‌ها مقاوم‌تر است و خاصیت ماندگاری بیشتری دارد که یکی از عوامل مهم خاصیت مقاومت شیر شتردر برابر فساد می‌تواند همین اثر لاکتوپراکسیداز موجود در آن باشد.

منابع

1. Cals, M.M., Mailliart, P., Brignon, G., Anglade P., Dumas, B.R. (1991). Primarystructure of bovine lactoperoxidase, a fourth member of a mammalian heme peroxidase family. *European Journal of Biochemistry* **198**: 733-9.
2. Erat, M., Çiftçi, M. (2003). In vitro effects of some antibiotics on glutathione reductase from sheep liver. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **18**: 545-55.
3. Fweja, L.W.T., Lewise. M.J., Grandison, A.S. (2008). Challenge testing the lactoperoxidase system against a range of bacteria using different activation agents. *Journal of Dairy Science* **91:** 2566-74.
4. Golhefors, L., Marklundi, S. (1975). Lactoperoxidase activity in human milk

www.SID.ir

Archive of SID

and in saliva of newborn infants. *Infection and Immunity* **11**: 1210-15.
5. Jacob, A.A., Low, I.E. (1972). *Mycoplasma* activity of peroxidase, H2O2-Halid System. *Infection and Immunity* **5**: 127-31.
6. Kumar, R., Bhatia, K.L. (2002). Standardization of method for lactoperoxidase assay in milk. *Lait* **79**: 269-74.
7. Kussendrager, K.D., Hooijdank, A.C.M. (2000). Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition* **84**: 19-25.
8. Macfaddin، J.F. (1999). *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Williams Wilkins: 646-47، 507-8.
9. Ozdemir, H., Hacibeyoglu, H.I., Uslu, H. (2002). Purification of lactoperoxidase from creek water buffalo milk and investigation of kineticand antibacterial properties. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* **32**: 143-55.
10. Ozgar, Y., Hassan, O. (2006). In vitro effect of some antibiotic drugs of bovine lactoperoxiadse system, *Turkish Journal of Medical Sciences* **41**: 349-53.
11. Shin, K., Tomita, M., Lönnerdal, B.(2000). Identification of lactoperoxida in mature human milk. *Journal of Nutritional Biochemistry* **11**: 94-102.
12. Uuz, M.T., Özdemir, H. (2005). Purification of bovine milk lactoperoxidaseand investigation of antibacterial properties at different thio-cyanate mediated. *Applied Biochemistry and Microbiology* **41**: 397-401.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 7, Issue 2, 2011

Isolation of Lactoperoxidase Enzyme from Camels' Milk and Survey Its Antibacterial Effects against *Staphylococcus* aureus

Bolori Moghaddam, M.[1*], Bahmanpoor, S.[1], Zibaee ,S.[2], Izadi, M.[3], Lal Alizade, S.[1]

1. Payam-e-Noor University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Department of research and development, Razi Vaccine & Serum Research Institute of Mashhad, Mashhad, Iran
3. Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

Received Date: 16 Feb 2012 *Accepted Date: 16 May 2012*

Abstract: *Lactoperoxidase enzyme is present in various mammalian glands and in their secretions. The lactoperoxidase system is a natural anti-microbial system in milk which results from the interaction between three components; the enzyme lactoperoxidase, thoicyanate ion and hydrogen peroxidase. Hydrogen peroxidase catalyzes the oxidation of thiocyanate to turn it into the antibacterial hypotiocyanate that, in turn, inhibits the growth of bacteria. Lactoperoxidase enzyme was extracted from the milk of camel. Camel milk was centrifuged at 2500 rpm at 4°C for 15 min to remove fat. Camel lactoperoxidase was extracted from raw milk using CM sepHadex C-50 ion exchange chromatography، and sephadex G-100 gel filtration chromatography. The activity of lactoperoxidase was measured by using tetramethylbenzidin as achoromogenic substrate. The determination of molecular weight for the extracted enzyme was controlled with SDS-PAGE .Km value for lactoperoxidase was 0.268 mM. Vmax value was 0/000149 µmol/ ml min. The antibacterial system was prepared. The complete system constituted lactoperoxidase ، H2O2، and tiocyanate .The antibacterial complete system effect was measured on the Staph aureus bacteria. For this purpose, the bacteria were incubated under complete system condition for 360 min. The findings indicated that the antibacterial complete system effect on Staph aureus was 70%. These results showed a significant difference as compared to the control.*

Keywords*: Camel milk, Lactoperoxidase enzyme, Pseudomonas aeruginosa.*

**Corresponding author: Bolori, M.*
Addrres: Payam-e-Noor University of Mashhad, Mashhad, Iran. Tel: 09355383521
Email: mehrinbolori@yahoo.com

www.SID.ir